

学校编码: 10384

学号: 200426001

分类号\_\_密级\_\_

UDC\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

***Caenorhabditis elegans* 对重金属离子  $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  的反应以及利用 RNAi 研究几种影响其寿命的基因**

**The Effects of  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  on *Caenorhabditis elegans* and Using RNAi to Study Several Genes which Affect Lifespan**

邓雅斌

指导教师姓名: 杨玉荣副教授

专 业 名 称: 动物学

论文提交日期: 2007 年 10 月

论文答辩时间: 2007 年 11 月

学位授予日期: 2007 年 11 月

答辩委员会主席: 刘升发教授

评阅人: \_\_

2007 年 11 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1. 保密（ ），在年解密后适用本授权书。
2. 不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

## 目 录

中文摘要 .....	1
英文摘要 .....	3
缩写语对照表 .....	6
前言 .....	7
1 环境监测 .....	7
2 影响寿命的通路 .....	11
3 RNA 干扰 .....	18
第一章 <i>C. elegans</i> 对重金属的毒性反应 .....	20
1 材料与方法 .....	20
2 结果 .....	23
3 讨论 .....	36
第二章 利用转基因秀丽小杆线虫 PC72 监测环境 .....	38
1 材料与方法 .....	38
2 结果 .....	40
3 讨论 .....	49
第三章 RNA 干扰载体的构建 .....	51
1 材料与方法 .....	51
2 结果 .....	53
3 讨论 .....	58
第四章 利用 RNAi 研究几种影响 <i>C. elegans</i> 寿命和繁殖的基因 ..	60
1 材料与方法 .....	60
2 结果 .....	61
3 讨论 .....	86
参考文献 .....	90
致谢 .....	97

## TABLE OF CONTENTS

ABSTRACT IN CHINESE .....	1
ABSTRACT IN ENGLISH .....	3
ABBREVIATION .....	6
Introduction .....	7
1 Monitor of environment pollution .....	7
2 Pathways which affect <i>C. elegans</i> lifespan .....	11
3 RNAi.....	18
Chapter 1 Heavy metal toxicity on <i>C. elegans</i> .....	20
1 Materials and methods .....	20
2 Results .....	23
3 Discussions .....	36
Chapter 2 Using transgenic nematode PC72 to monitor the environment pollution .....	38
1 Materials and methods .....	38
2 Results .....	40
3 Discussions .....	49
Chapter 3 Construction of RNAi vector .....	51
1 Materials and methods .....	51
2 Results .....	53
3 Discussions .....	58
Chapter 4 Using RNAi to study several genes that affect <i>C. elegans</i> lifespan .....	60
1 Materials and methods .....	60
2 Results .....	61
3 Discussions .....	86
REFERENCES.....	90
ACKNOWLEDGMENTS .....	97

## 摘要

本文研究了秀丽小杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 对重金属  $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$  的反应以及利用 RNAi 对影响 *C. elegans* 寿命的一些因素进行了研究。

首先研究了三种重金属对秀丽小杆线虫的毒害作用。结果表明：24h 时，三种重金属的毒性为  $\text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$ ，半致死浓度分别为  $41774 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $65945 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $113323 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ；48h 时，三种重金属的毒性为  $\text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$ ，半致死浓度分别为  $31567 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $38679 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $63423 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ；72h 时，三种重金属的毒性为  $\text{Cd}^{2+} \approx \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$ ，半致死浓度分别为  $24669 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $24946 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $40668 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。三种重金属的毒性中  $\text{Cd}^{2+}$  随时间变化的速度最快， $\text{Pb}^{2+}$  随时间变化的速度最慢； $\text{Pb}^{2+}$  随浓度的变化最快， $\text{Zn}^{2+}$  随浓度变化最慢。

重金属浓度对 *C. elegans* 联合作用的影响的实验表明：当  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  共同作用于线虫时，在低浓度时，呈现出简单的相加作用，高浓度时，呈现出拮抗作用； $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  共同作用于线虫时，四个浓度都呈现出简单的相加作用；当  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  共同作用于线虫时，低浓度呈现出简单的相加效应，高浓度呈现出协同作用。

用 AI 指数法分析 *C. elegans* 暴露重金属的时间对重金属联合作用的影响，结果表明：当  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  以 1: 2 的质量比混合时，在 24h、48h 和 72h，其相加指数 AI 均小于 0，联合作用表现为拮抗作用；当  $\text{Pb}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  以 1: 2 的质量比混合时，在 24h、48h 和 72h，其相加指数 AI 均小于 0，联合作用表现为拮抗作用；当  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  以 1: 1 的质量比混合时，在 24h，其相加指数大于 0，联合作用表现为协同作用；在 48h 和 72h，其相加指数均小于 0，联合作用表现为拮抗作用。

利用转基因线虫 PC72，发展了一种可用于生物监测的高灵敏度的生物监测器。实验结果表明：在三种重金属的毒害下，染色率都呈现出随致死率变化而变化的特点，延长毒害时间能增加其染色率，空白对照即便染色时间延长也未曾出现明显的染色率增加。利用计分法评估线虫的染色效果，得分也和染色率呈现出相关变化。与致死率相比，用染色评估水体毒性的方法更加快捷、灵敏。

转基因线虫 PC72 染色的方法用于检验厦门海域海水水质取得了比较好的效果，检测结果显示染色率与致死率的变化趋势相同，染色率与致死率相关，但利

用染色率检测能够缩短检测时间，提高监测灵敏度。

其次利用RNAi法研究了几种影响*C. elegans*寿命的基因。构建了四个RNA干扰载体：R148.3a、*Cnfkb* (*C. elegans nfkb* like)、*sqv-4*、*helicase*。将四种食物喂食线虫，研究其对线虫寿命的影响。

R148.3a (RNAi)菌喂食的线虫呈现出产卵数目下降，寿命缩短的特点，并且会使N2、*daf-2(e1370)*、*daf-16(mu86)*突变体的免疫力下降。

*Cnfkb* (RNAi)菌喂食N2线虫并不能使其寿命发生明显变化，但却会使其免疫力下降，易于被金黄色葡萄球菌感染。同时*Cnfkb*缺失使免疫力下降的作用依赖于*daf-16*，当*daf-16*突变时，*Cnfkb*不能使*daf-16*突变体的免疫力进一步下降。

*helicase*(RNAi)菌喂食的线虫，产卵数目较对照N2下降，寿命缩短了2.9天。同时*helicase*功能的缺失会使线虫幼虫部分致死。

*sqv-4*(RNAi)菌喂食的线虫，产卵数目大幅度下降，并有很强的胚胎致死能力，所产的卵大多数无法孵化成幼虫。同时*sqv-4*干扰后，线虫的寿命会缩短约1.5天。

*lin-28(n1119)*突变体寿命相对于N2延长了8%，*lin-4(e912)*突变体寿命相对于N2缩短了47%，*let-7(n2853)*寿命相对N2缩短了36%。然而双突变体*lin-28(n719); lin-4(e912)*的寿命相对于*lin-28(n1119)*无明显改变，说明*lin-28*位于*lin-4*下游。

关键词：*Caenorhabditis elegans*；重金属；毒性；RNAi；寿命

**ABSTRCT**

*Caenorhabditis elegans* was used in this paper to study the factors affecting lifespan.

We studied the toxic effects of three heavy metals  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  on *C. elegans*. The results indicated that: after *C. elegans* exposed to the three heavy metals 24hs, the toxicity of three heavy metals was  $\text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$ , LC 50 of three heavy metals was  $41774 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $65945 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $113323 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  respectively; after exposed to the three heavy metals 48hs, the toxicity of the three metals was:  $\text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$ , LC 50 of three heavy metals was  $31567 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $38679 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $63423 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  respectively; after exposed to the three heavy metals 72hs, the toxicity of the three metals was  $\text{Cd}^{2+} \approx \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$ , LC50 of three heavy metals was  $24669 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $24946 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $40668 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  respectively. In the three metals, the toxicity of  $\text{Cd}^{2+}$  changed most with the time and the toxicity of the  $\text{Pb}^{2+}$  changed least with the time. The toxicity of  $\text{Pb}^{2+}$  changed most with the concentration and the toxicity of  $\text{Zn}^{2+}$  changed least with the concentration.

The experiments of concentration effects in combination of two metals presented that: the toxic effect of  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  in combination was additional in low concentration and was antagonistic in high concentration; the toxic effect of  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  in combination was additional in all concentration in our experiment; the toxic effect of  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  was additional in low concentration and synergistic in high concentration.

Using additive index method to know the time effects in the combination, we found that: when  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  were mixed in 1: 2 in weight, the AI of 24h, 48h and 72 h were minus and the combination effects were antagonistic; when  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  were mixed in 1: 2 in weight, the AI of 24h, 48h and 72 were minus and the combination effects were antagonistic; when  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  were mixed in 1: 1 in weight, the AI of 24h was positive and the combination effect was synergistic but the AI of 48h and 72 h were minus and the combination effects were antagonistic.



Transgenic worm PC72 was used as a biomonitor for the heavy metal contamination which has a high sensitivity. Results indicated: in all metals, the staining ratio changed with the lethal ratio and prolonging the processing time could enhance the staining ratio. We used score method to estimate the effect and found that score changed with the staining ratio. Compared with lethality method, staining method was more quick and sensitive.

The staining method also got a good result in the practice of monitoring the pollution of sea water in Xiamen. The staining ratio and the lethal ratio had correlation. The staining method could shorten the experiment time and enhance the sensitivity.

We used RNAi to study the genes which could affect the lifespan of *C. elegans*.

Four RNAi vectors: R148.3a, *Cnfbk* (*C. elegans nfkb* homologus), *sqv-4* and *helicase* were constructed.

The result of R148.3a RNAi showed that lost function of R148.3a could reduce the egg number, shorten the lifespan and decrease the immunity in N2, *daf-2(e1370)* and *daf-16(mu86)* mutants.

*Cnfbk* was a homologus of human *nfkb* light polypeptide gene in *C.elegans*. The similarity of this gene to *nfkb* was 31.09%. Feeding N2 with *Cnfbk* RNAi bacteria could not change the lifespan but decreased N2 immunity, and the worm easy infected with *S. aureus*. The ability of *cnfbk* reduced the immunity depended on *daf-16*. Lost function of *Cnfbk* by RNAi couldn't reduce the lifespan of *daf-16(mu86)* mutant further.

Nematodes fed on *helicase* (RNAi) bacteria laid less eggs and the lifespan of the nematode was 2.9 days shorter than normal nematode. Lost function of *helicase* by RNAi also made some larvae die at early stage.

When the nematodes were fed on *sqv-4* (RNAi) bacteria, the number of eggs nematodes laid was reduced dramatically. Lost function of *sqv-4* the worm has the high embryo lethality. 96.7 % of the eggs couldn't become larva and died in the early stage. At same time the lifespan of the *sqv-4* mutant by RNAi was 1.5 day shorter than N2.

The lifespan of *lin-28(n1119)* mutant was 8% longer than N2. The lifespan of *lin-4(e912)* mutant was 47% shorter than N2. The lifespan of *let-7(n2853)* mutant is 36% shorter than N2. The double mutant *lin-28(n719);lin-4(e912)* mutant lived no longer than *lin-28(n1119)* mutant. This implies that *lin-28* works downstream of *lin-4*.

Key word: *Caenorhabditis elegans*; heavy metal; toxicity; RNAi; lifespan

## 缩写语对照表

g mg $\mu$ g	克 毫克 微克
L mL $\mu$ L	升 毫升 微升
mol mmol	摩尔 毫摩尔
M mM	摩每升 毫摩每升
h	小时
NGM	nematode growth medium 线虫生长介质
HSP	热激蛋白 Heat Shock Protein
EtOH	乙醇

## 前言

秀丽小杆线虫(*Caenorhabditis elegans*), 隶属于线虫门, 体形小, 长度仅 1mm, 体呈筒状, 尾部渐尖, 是一种自由生活的线虫, 生活于土壤中, 尤其是腐败的植物中, 可依赖于土地中的微生物如细菌生存, 其分布遍布世界各地<sup>[1]</sup>。

秀丽小杆线虫包括雄虫和可以自体受精的雌虫。成虫 959 个体细胞中约 300 个为神经细胞。神经包括一组位于头部的感受器官, 能够感知温度、气味、味道和触摸, 尽管线虫没有眼, 但是能对光作出微弱的反应。肌肉细胞 81 个, 通过肌肉细胞的松弛紧张产生沿身体的波动, 推动虫体运动。

秀丽小杆线虫虽然是一种比较低等的生物, 但它与生物学中的中心问题有许多共同点。线虫也是由单细胞通过复杂的发育过程, 经过胚胎分裂、形态发生发育为幼虫, 经 4 次蜕皮发育为成虫。它有一个带有脑(环咽神经环)的神经系统, 有行为, 甚至具有一定的学习能力, 能够产生精子和卵子, 交配繁殖, 在产卵后逐渐衰老, 失去活力最终死亡<sup>[2]</sup>。而胚胎产生、形态发生、神经、发育、行为和寿命这些又是如何为基因所影响, 正是近代生物研究的热点。

秀丽小杆线虫还具有如下优点: 能够在接种有细菌的平板上生长; 易于观察, 身体透明, 全身九百多个细胞易于在显微镜下观察; 生命周期短, 平均寿命 2-3 星期; 繁殖能力强, 一条虫一生能产卵数百个; 培养成本廉价, 仅需喂食大肠杆菌; 培养方法简单, 在培养基上就可培养; 分布广泛, 全球都可以获得。正是这些特点使得秀丽小杆线虫成为一种研究发育和寿命的极佳的模式生物。

生物体的寿命受多种因素的影响, 影响因素主要分为两大类: 外因和内因。外因包括来自外界的不良影响, 如致病菌感染、重金属毒害、有机污染物的损伤、高温高压、紫外照射等等。内因主要是生物体自身个体差异造成的, 其中最为主要的原因之一就是基因的差别。

利用外因影响寿命的特点, 我们可以将秀丽小杆线虫发展成为一种生物监测器, 对某些环境因素进行监测, 比如重金属。

利用内因对寿命的影响, 我们可以深入了解基因影响寿命<sup>[2]</sup>的奥妙, 为更高等生物中的寿命研究提供理论依据。

## 1 环境监测

环境污染监测常用的有物理监测、化学监测和生物监测。指示生物可以为环境的潜在威胁包括一些重金属和有机污染物的出现提供早期预警。这种分析方法常需要监测的物质与某些标准物比较来监测污水的短期毒性，标准物主要利用无脊椎动物和镉的 96h 毒害分析作为参照毒物。

物理和化学方法对环境的监测主要利用精密的仪器，比如ICP-AES和GC-MS来监测，这些仪器具有高灵敏度和高准确度，但需要已知被测物的化学成分和对样品进行纯化。由于一般采集的样品中常含有许多未知的成分，因此很难对样品中所有的有毒物质做一个综合的评价。美国环境保护协会(U. S. Environment Protection Agency)倡议用动物进行生物监测的方法来打破常规物理化学方法在样品全面分析中的局限性。

生物监测是环境和毒理学研究常用的方法，通过将实验生物暴露在样品中，样品中任何化学物质包括那些并不在标准实验列表中的化学物质的毒性都可以在一个测试中一次性显示。生物监测还能够发现那些由于毒性物质与生物的亲和性差异以及其它未知因素而造成的生物对不同毒性物质的吸收性的差别和多种毒性物质共同作用的联合效应。生物分析的方法为物理和化学测定方法提供了一个很好的互补，弥补了它们在毒性监测中不能直接反应毒性物质在生物体内潜在危险的缺点。

然而，由于实践中实验动物大多数获取难，个体差异大，难于标准化等原因，使得生物监测具有局限性，生物监测分析的方法并没有得到非常广泛的应用。

### 1.1 利用秀丽小杆线虫作为环境污染的生物监测器

一种生物要用于环境污染的生物监测需要满足许多条件。首先，该生物必须对受测毒性物质敏感，其次，常年易于在实验室培养，再次，个体差异小，易于标准化。发育生物学中广泛应用的自由生活的秀丽小杆线虫满足了这个要求。

在自然环境中，秀丽小杆线虫依赖于土壤和水体中的细菌生存，广泛分布于世界各地，基本不受地域限制；在实验室中，可依赖大肠杆菌OP50生存，易于培养标准化。它的培养条件、发育阶段、形态特征以及遗传特性等研究的比较清楚。同时，它的生命周期短、培养费用低，对水体pH、盐度、硬度、温度耐受性比较强，使其成为比较优质的生物监测器。

利用转基因技术可以培育出适应不同需求的灵敏度不同的转基因虫株。利用

秀丽小杆线虫作为生物监测器可使环境污染中的生物监测标准化和普及。目前常规的生物监测主要通过致死率、繁殖力来衡量环境污染程度。

## 1.2 HSP

压力反应(stress response)是生物体在不良环境刺激下产生的反应,该反应常以热激蛋白(Heat Shock Protein, HSP)的出现为标志<sup>[3]</sup>。当细胞受到压力刺激时,热激蛋白转录因子前体(Pre-existing Heat Shock Transcription Factors, HSTF)被活化和热激蛋白基因启动子区域的热激元件(Heat Shock Elements, HSEs)相结合,从而活化它们的转录<sup>[4, 5]</sup>。*hsp* 基因的表达可以在亚致死的水平快速表现出环境损伤给细胞的压力<sup>[6]</sup>。线虫的研究表明这种方法的可行性,用带有压力可诱导的热激蛋白基因的调控区域和报告基因相连的转基因虫株可以检测有毒化合物的存在<sup>[7]</sup>。

利用线虫*hsp*启动子启动的半乳糖苷酶报告基因的转基因线虫PC72和果蝇*hsp*启动子启动的半乳糖苷酶报告基因的转基因线虫CB4027做实验,表明PC72虫株比CB4027虫株更加敏感,将虫株放在待测溶液中25℃保温2h~24h可以增加实验效果,在30分钟至24h后可进行酶分析<sup>[4, 8]</sup>。

近年来还有其它的转基因虫株用于重金属监测,如金属硫因蛋白*mtl-2*启动子驱动半乳糖苷酶报告基因的转基因虫株JF2.1,这种虫株不会被所有环境压力诱导,仅选择性的被某些重金属所诱导,其所能检测出来的重金属浓度基本在 $10-100\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ <sup>[9]</sup>。

## 1.3 环境污染中的重金属

随着工业的发展,有害金属污染物的排放,使环境恶化日趋严重,已直接或间接地对生物和生态系统造成威胁。金属污染物一旦进入环境或生物体,会在环境和生物体内日益积累,难以排出,对环境和生物体造成损害。微量金属元素在生物体内主要以电解质的形式,参与酶活性的变化,进而对生物体内各种生命活动发挥作用;当其浓度超过生物体的正常生理量时,也会引起中毒<sup>[10]</sup>。镉(Cd)、锌(Zn)、铅(Pb)是三种自然界中经常共存的重金属,了解它们对机体的单独和联合毒性作用对于环境保护非常重要。

### 1.3.1 镉

镉(cadmium)广泛存在于自然界中, 常与铅、锌矿共存, 地壳平均含量为0.2mg/kg。自1871年冶金学家F. Stromyer在氧化锌中发现镉以来, 人类对镉的开采量不断上升, 环境中的镉污染不断加剧。相当数量的镉通过人类活动产生的废水、废气和废渣排放进入环境, 污染源主要为铅锌矿的开采、有色金属冶炼、电镀、电器、合金、焊接、玻璃陶瓷、油漆颜料、照相材料、光电池、蓄电池、化肥、农药、塑料、枪械弹药及轴承等生产过程。食用镀镉容器盛装的酸性食物和抽烟可引起急慢性镉中毒。

镉主要以二价离子存在于自然界, 可随水迁移到土壤、植物和人体中, 由于镉与碳的结合不稳定, 因此镉在环境中难以甲基化。人体中含镉过高, 轻者会引起头晕、恶心、呕吐、腹泻、骨质疏松等症状, 在我国贵州省赫章县境内就发现一些居民由于摄入镉量过高出现骨质疏松、软化、膝内翻和“O”型腿等症状; 重者还会致死, 1944年出现在日本神通川富山县的“痛痛病”就造成了上百人的死亡<sup>[11]</sup>。

### 1.3.2 铅

铅是一种古老的毒物, 在我国工业废气中, 铅主要来源于有色金属冶炼工业及其采选业, 其次是印刷工业。在工业废水中铅与各种重金属相比, 排放量最大。

### 1.3.3 锌

锌是生物体所必需的微量元素, 当其浓度超过一定阈值, 也会对机体产生损伤。锌在与很多金属作用时, 具有一定的解毒效果。

程时等研究镉所致肝细胞损坏的超微结构定量变化时, 用超薄切片拍摄胞浆区域的放大底片, 再用测试网格计量胞浆中各细胞成分的体积密度, 结果表明, 给镉组动物肝细胞内线粒体、粗面内质网明显减少, 但核糖体却明显增多。若给镉前预先以锌处理动物, 则镉处理后的动物肝细胞粗面内质网增生, 显示锌的抗镉作用, 但镉致损伤形成后, 再用锌处理动物则无保护效力<sup>[12]</sup>。

镉(Cd)、锌(Zn)、铅(Pb)是三种自然界中经常共存的金属, 了解它们对机体的单独和联合毒性作用对于环境保护非常重要。

### 1.3.4 联合作用

目前多数研究只是研究单一金属对生物的毒害, 很少研究不同金属共同作用

于生物的效果<sup>[13]</sup>。实际环境中的金属常为混合物，因此研究不同金属间的联合作用很必要。

最早提出联合作用理论的是 Bliss<sup>[14]</sup>，早在 1939 年就提出了三种联合作用类型，即相似联合作用、独立联合作用、协同和拮抗联合作用。相似联合作用假定两种化学物可作用于同一受体系统，其效应为两者分别作用时的综和。独立联合作用是指多种化学物作用于机体的不同靶部位，产生互不相同的效应。协同和拮抗联合作用是指两种化合物的效应分别大于或小于相加作用。

70 年代在研究水生物毒理学时，引入了浓度相加和反应相加的概念。

当前公认和普遍应用的方法是 1981 年世界卫生组织专家委员会技术报告中提出的分类法。该报告认为，当有害因素危害机体时，可发生三类作用：

(1)协同作用(Synergistic effect)——总效应大于各有害因素单独作用时的总和。

(2)相加作用(Additional effect)——总效应等于各有害因素单独作用时的总和。

(3)拮抗作用(Antagonistic effect)——总效应小于各有害因素单独作用时的总和。

应当指出的是，分类术语通常是描述实际效果与预期效果之间的关系，而效应的性质往往与所暴露的剂量以及暴露时间有关。

## 2 影响寿命的通路

近 15 年秀丽小杆线虫作为一种研究整体生物寿命的模式得到了广泛研究<sup>[15]</sup>。通过研究，人们发现了大批影响秀丽小杆线虫寿命的基因以及这些基因相互之间的作用机制。现在已发现的主要有以下这些途径(图 1. 1)。



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库